

学校编码: 10384

学号: 22420080150109

密级\_\_\_\_\_

UDC\_\_\_\_\_

# 厦 门 大 学

## 博 士 学 位 论 文

### 镉和锌对白氏文昌鱼的生态毒理学研究

Ecotoxicological Response of *Branchiostoma belcheri* (Gray, 1847) Under Stress of Cadmium and Zinc

卢 斌

指导教师姓名: 王文雄 教授

柯才焕 教授

专 业 名 称: 海 洋 生 物 学

论文提交日期: 年 月 日

论文答辩日期: 年 月 日

学位授予日期: 年 月 日

2012 年 6 月

### 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（     ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
年   月   日解密，解密后适用上述授权。

（     ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

# 目 录

摘 要.....	1
Abstract .....	4
第一章 前 言 .....	7
1.1 文昌鱼的摄食生理生态 .....	7
1.1.1 文昌鱼的摄食习性.....	7
1.1.2 文昌鱼的生存环境.....	10
1.1.3 厦门文昌鱼生活海域的重金属污染状况.....	11
1.2 水生生物金属累积动力学模型及其应用 <sup>[49]</sup> .....	12
1.2.1 动力学模型的计算及参数测定方法.....	12
1.2.2 动力学模型的应用.....	14
1.3 水生生物对重金属污染的毒理响应研究进展 .....	15
1.3.1 毒性检测实验.....	15
1.3.2 组织-细胞形态病理变化 .....	16
1.3.3 酶活性的变化.....	16
1.3.4 蛋白质组的变化.....	17
1.3.5 基因表达水平的变化.....	18
1.4 本论文研究内容和意义 .....	19
第二章 文昌鱼的摄食生理及颗粒选择 .....	20
2.1 材料和方法 .....	20
2.1.1 样品采集和暂养.....	20
2.1.2 主要的试剂和仪器.....	21
2.1.3 文昌鱼种类的鉴定及清滤率计算方法.....	21
2.1.4 白氏文昌鱼的颗粒性选择.....	23
2.1.5 白氏文昌鱼对有机碳的同化.....	25
2.1.6 数据分析.....	26
2.2 结果 .....	27

2.2.1 两种文昌鱼的清滤率测定.....	27
2.2.2 白氏文昌鱼的颗粒性选择.....	29
2.2.3 白氏文昌鱼对有机碳的同化吸收.....	31
<b>2.3 讨论 .....</b>	<b>32</b>
2.3.1 厦门海域存在两种文昌鱼.....	32
2.3.2 两种文昌鱼的滤食行为.....	33
2.3.3 白氏文昌鱼在藻类沉积物混合液中的颗粒选择行为.....	34
2.3.4 质量守恒法与双示踪标记法测定文昌鱼对碳的同化率.....	35
<b>2.4 小结 .....</b>	<b>36</b>
<b>第三章 白氏文昌鱼对镉和锌的累积及其生物动力学模型.....</b>	<b>37</b>
<b>第一节 白氏文昌鱼对溶解态镉和锌的吸收速率 .....</b>	<b>38</b>
<b>3.1.1 材料和方法 .....</b>	<b>38</b>
3.1.1.1 样品采集和暂养 .....	38
3.1.1.2 主要的试剂和仪器 .....	38
3.1.1.3 放射性溶液的配制 .....	38
3.1.1.4 暴露时间及金属浓度与吸收速率的关系 .....	38
3.1.1.5 温度、盐度对文昌鱼水相金属吸收速率的影响 .....	39
3.1.1.6 放射性活度的测定 .....	39
<b>3.1.2 结果 .....</b>	<b>40</b>
3.1.2.1 暴露时间及金属浓度与吸收速率的关系 .....	40
3.1.2.2 温度、盐度对文昌鱼水相金属吸收速率的影响 .....	40
<b>3.1.3 讨论 .....</b>	<b>42</b>
3.1.3.1 水相金属的吸收速率 .....	42
3.1.3.2 温度、盐度对文昌鱼水相金属吸收速率的影响 .....	44
<b>第二节 白氏文昌鱼对食物相镉和锌的同化率 .....</b>	<b>45</b>
<b>3.2.1 实验方法 .....</b>	<b>45</b>
3.2.1.1 单胞藻的放射性标记 .....	45
3.2.1.2 不同藻种对文昌鱼金属同化率的影响 .....	46
3.2.1.3 不同藻密度对文昌鱼金属同化率的影响 .....	46
<b>3.2.2 结果 .....</b>	<b>46</b>

3.2.2.1 不同藻类对文昌鱼金属同化率的影响 .....	46
3.2.2.2 不同密度 <i>T. pseudonana</i> 对文昌鱼金属同化率的影响 .....	48
<b>3.2.3 讨论 .....</b>	<b>50</b>
3.2.3.1 不同藻类对文昌鱼金属同化率的影响 .....	50
3.2.3.2 不同密度 <i>T. pseudonana</i> 对文昌鱼金属同化率的影响 .....	51
<b>第三节 白氏文昌鱼体内镉和锌的排出速率 .....</b>	<b>53</b>
<b>3.3.1 实验方法 .....</b>	<b>53</b>
3.3.1.1 水相和饵料暴露实验 .....	53
3.3.1.2 排出率常数 .....	54
<b>3.3.2 结果 .....</b>	<b>54</b>
<b>3.3.3 讨论 .....</b>	<b>55</b>
<b>第四节 生物动力学模型的应用 .....</b>	<b>57</b>
3.4.1 实验方法 .....	57
3.4.2 结果与讨论 .....	57
<b>3.5 小结 .....</b>	<b>61</b>
<b>第四章 低浓度镉、锌暴露对白氏文昌鱼的毒性累积及其几种重要酶活性的影响 .....</b>	<b>63</b>
<b>4.1 材料和方法 .....</b>	<b>64</b>
4.1.1 仪器与试剂 .....	64
4.1.2 镉、锌对文昌鱼的 96h 半致死浓度测定 .....	64
4.1.3 镉、锌在文昌鱼体内的富集累积及含量测定 .....	64
4.1.4 镉、锌暴露后文昌鱼体内的酶活测定 .....	65
4.1.5 数据处理及分析 .....	65
<b>4.2 结果 .....</b>	<b>65</b>
4.2.1 镉、锌对文昌鱼的半致死浓度 .....	65
4.2.2 文昌鱼体内的金属累积含量 .....	66
4.2.3 镉、锌对文昌鱼体内乙酰胆碱酯酶 AChE 活性的影响 .....	67
4.2.4 镉、锌对文昌鱼体内丙二醛 MDA 含量的影响 .....	67
4.2.5 镉、锌对文昌鱼体内 SOD 活性的影响 .....	67

4.2.6 镉、锌对文昌鱼体内 AKP 活性的影响.....	67
4.2.7 镉、锌对文昌鱼体内 ACP 活性的影响 .....	69
<b>4.3 讨论 .....</b>	<b>70</b>
4.3.1 文昌鱼对镉、锌两种金属的耐受性.....	70
4.3.2 文昌鱼体内几种酶活性的变化.....	70
<b>4.4 小结 .....</b>	<b>72</b>
<b>第五章 镉锌暴露下白氏文昌鱼的差异蛋白质组分析.....</b>	<b>73</b>
<b>5.1 材料和方法 .....</b>	<b>74</b>
5.1.1 仪器和试剂.....	74
5.1.2 文昌鱼亚致死金属浓度暴露.....	75
5.1.3 镉锌暴露的文昌鱼总蛋白的提取.....	75
5.1.4 蛋白浓度测定.....	76
5.1.5 2D 电泳 .....	76
5.1.6 染色.....	77
5.1.7 蛋白酶解及质谱鉴定.....	77
<b>5.2 结果 .....</b>	<b>78</b>
5.2.1 镉暴露下文昌鱼组织差异表达蛋白的筛选与鉴定.....	78
5.2.2 锌暴露下文昌鱼组织差异表达蛋白的筛选与鉴定.....	86
<b>5.3 讨论 .....</b>	<b>96</b>
<b>5.4 小结 .....</b>	<b>100</b>
<b>第六章 镉锌暴露下白氏文昌鱼数字基因表达谱分析.....</b>	<b>101</b>
<b>6.1 材料和方法 .....</b>	<b>101</b>
6.1.1 试剂和仪器.....	101
6.1.2 镉锌暴露后的文昌鱼总 RNA 的提取 .....	102
6.1.3 镉锌暴露下白氏文昌鱼的数字基因表达谱.....	102
6.1.4 镉锌暴露下文昌鱼基因表达谱的生物信息学分析.....	103
6.1.5 实时荧光定量 PCR 验证 .....	105
<b>6.2 结果与分析 .....</b>	<b>108</b>
6.2.1 文昌鱼镉锌暴露表达谱测序质量分析.....	108
6.2.2 文昌鱼金属暴露差异表达基因分析.....	109
6.2.3 文昌鱼金属暴露差异基因表达注释分析.....	110



6.2.4 文昌鱼金属暴露差异基因 GO 功能显著性富集分析 .....	114
6.2.5 文昌鱼金属暴露差异基因表达模式聚类分析.....	118
6.2.6 文昌鱼金属暴露差异基因 Pathway 途径分析 .....	120
6.2.7 荧光定量 PCR 验证 .....	124
6.3 讨论 .....	125
6.4 小结 .....	129
总结与展望 .....	131
参 考 文 献 .....	132
博士期间参与课题及发表论文 .....	153
致 谢.....	154

## Table of Contents

<b>Abstract (in Chinese) .....</b>	<b>1</b>
<b>Abstract (in English).....</b>	<b>4</b>
<b>Chapter one: Introduction .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1 Feeding physiology of amphioxus .....</b>	<b>7</b>
1.1.1 Filter feeding of amphioxus .....	7
1.1.2 Habitat of amphioxus .....	10
1.1.3 Metal pollution in the ambient water of amphioxus .....	11
<b>1.2 Biokinetic models in aquatic organisms .....</b>	<b>12</b>
1.2.1 Biokinetic model .....	12
1.2.2 Application of biokinetic model .....	14
<b>1.3 Metal toxicology in aquatic organisms .....</b>	<b>15</b>
1.3.1 Toxic level .....	15
1.3.2 Pathological biomarkers .....	16
1.3.3 Enzyme activity .....	16
1.3.4 Proteomic expression .....	17
1.3.5 Gene expression .....	18
<b>1.4 Objectives and framework of this study .....</b>	<b>19</b>
<b>Chapter two: The feeding physiology of amphioxus .....</b>	<b>20</b>
<b>2.1 Material and methods .....</b>	<b>20</b>
2.1.1 Amphioxus .....	20
2.1.2 Reagents and instruments .....	21
2.1.3 Clearance rate .....	21
2.1.4 Particle selection of amphioxus .....	23
2.1.5 Assimilation of organic carbon in amphioxus .....	25
2.1.6 Statistical analysis .....	26
<b>2.2 Results .....</b>	<b>27</b>
2.2.1 Clearance rates .....	27

2.2.2 Particle selection .....	29
2.2.3 Carbon assimilation .....	31
<b>2.3 Discussion .....</b>	<b>32</b>
2.3.1 Two species of amphioxus in Xiamen coastal waters.....	32
2.3.2 The feeding habit of amphioxus.....	33
2.3.3 Particle selection .....	34
2.3.4 Carbon assimilation .....	35
<b>2.4 Conclusion.....</b>	<b>36</b>
 <b>Chapter three: Importance of waterborne cadmium and zinc</b>	
<b>accumulation in the suspension-feeding amphioxus <i>Branchiostoma</i></b>	
<b><i>belcheri</i> .....</b>	<b>37</b>
 <b>Part 1: Influx rates of amphioxus.....</b>	<b>38</b>
 <b>3.1.1 Materials and methods.....</b>	<b>38</b>
3.1.1.1 Amphioxus .....	38
3.1.1.2 Reagents and instruments .....	38
3.1.1.3 Exposure medium .....	38
3.1.1.4 Exposure time .....	38
3.1.1.5 Influence of temperature and salinity on metal accumulation .....	39
3.1.1.6 Radioactivity measurement.....	39
<b>3.1.2 Results.....</b>	<b>40</b>
3.1.2.1 Exposure time with influx rates .....	40
3.1.2.2 Influence of temperature and salinity on metal accumulation .....	40
<b>3.1.3 Discussion .....</b>	<b>42</b>
3.1.3.1 Influx rates .....	42
3.1.3.2 Influence of temperature and salinity on metal accumulation .....	44
 <b>Part 2: Assimilation efficiency of Cd and Zn in amphioxus .....</b>	<b>45</b>
 <b>3.2.1 Methods .....</b>	<b>45</b>
3.2.1.1 Algae radiotracer labeling .....	45
3.2.1.2 Effect of different algae species on metal assimilation.....	46

3.2.1.3 Effect of different algae concentrations on metal assimilation.....	46
<b>3.2.2 Results.....</b>	<b>46</b>
3.2.2.1 Effect of different algae species on metal assimilation.....	46
3.2.2.2 Effect of different <i>T. pseudonana</i> species on metal assimilation.....	48
<b>3.2.3 Discussion.....</b>	<b>50</b>
3.2.3.1 Effect of different algae species on metal assimilation.....	50
3.2.3.2 Effect of different <i>T. pseudonana</i> species on metal assimilation.....	51
<b>Part 3: Efflux rates of Cd and Zn in amphioxus.....</b>	<b>53</b>
<b>3.3.1 Methods.....</b>	<b>53</b>
3.3.1.1 Waterborne and dietary exposure.....	53
3.3.1.2 Efflux rates.....	54
<b>3.3.2 Results.....</b>	<b>54</b>
<b>3.3.3 Discussion.....</b>	<b>55</b>
<b>Part 4: Biokinetic model of Cd and Zn in amphioxus.....</b>	<b>57</b>
<b>3.4.1 Materials and methods.....</b>	<b>57</b>
<b>3.4.2 Result and discussion.....</b>	<b>57</b>
<b>3.5 Conclusion.....</b>	<b>61</b>
<b>Chapter four: Effect of sublethal Cd and Zn exposure on selected enzymes in amphioxus <i>Branchiostoma belcheri</i>.....</b>	<b>63</b>
<b>4.1 Materials and methods.....</b>	<b>64</b>
4.1.1 Reagents and instruments.....	64
4.1.2 96h LC <sub>50</sub> of amphioxus exposed to Cd and Zn.....	64
4.1.3 Metal body burden.....	64
4.1.4 Enzyme activity.....	65
4.1.5 Statistical analysis.....	65
<b>4.2 Results.....</b>	<b>65</b>
4.2.1 96h LC <sub>50</sub> .....	65
4.2.2 Metal body burden.....	66
4.2.3 AChE activity.....	67

4.2.4 MDA activity .....	67
4.2.5 SOD activity.....	67
4.2.6 AKP activity.....	67
4.2.7 ACP activity .....	69
<b>4.3 Discussion .....</b>	<b>70</b>
4.3.1 Metal body burden .....	70
4.3.2 Enzyme activity .....	70
<b>4.4 Conclusion.....</b>	<b>72</b>
<b>Chapter five: Stress proteins of amphioxus exposed to Cd and Zn...</b>	<b>73</b>
<b>5.1 Materials and methods.....</b>	<b>74</b>
5.1.1 Reagents and instruments .....	74
5.1.2 Sublethal Cd and Zn exposure .....	75
5.1.3 Whole protein extract.....	75
5.1.4 Protein concentration .....	76
5.1.5 2D-PAGE .....	76
5.1.6 Dyeing.....	77
5.1.7 Protein identification.....	77
<b>5.2 Results.....</b>	<b>78</b>
5.2.1 Differential proteins identified after exposure to Cd .....	78
5.2.2 Differential proteins identified after exposure to Zn .....	86
<b>5.3 Discussion .....</b>	<b>96</b>
<b>5.4 Conclusion.....</b>	<b>100</b>
<b>Chapter six: Digital gene expression profiles of amphioxus after Cd and Zn exposure .....</b>	<b>101</b>
<b>6.1 Materials and methods.....</b>	<b>101</b>
6.1.1 Reagents and instruments .....	101
6.1.2 Total RNA extract .....	102
6.1.3 DGE profiles .....	102
6.1.4 Information .....	103
6.1.5 RT-PCR .....	105

<b>6.2 Results.....</b>	<b>108</b>
6.2.1 Sequence quality assessment .....	108
6.2.2 Screening of differentially expressed genes.....	109
6.2.3 Gene expression annotation .....	110
6.2.4 GO functional enrichment analysis for DGEs .....	114
6.2.5 Clustering analysis of DGE pattern .....	118
6.2.6 Pathway enrichment analysis for DGEs .....	120
6.2.7 RT-PCR .....	124
<b>6.3 Discussion .....</b>	<b>125</b>
<b>6.4 Conclusion.....</b>	<b>129</b>
<b>Conclusion and prospect .....</b>	<b>131</b>
<b>References .....</b>	<b>132</b>
<b>Publications and Projects .....</b>	<b>153</b>
<b>Acknowledgement .....</b>	<b>154</b>

## 摘要

本文以厦门海域产白氏文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri*) 为实验材料, 通过对文昌鱼的摄食生理生态的了解, 进一步采用放射性同位素  $^{109}\text{Cd}$  和  $^{65}\text{Zn}$  来测定文昌鱼对镉、锌累积的动力学模型各参数, 以了解这两种金属在文昌鱼体内的暴露途径及生物放大潜能。同时通过 7d 亚慢性毒性实验研究镉、锌对文昌鱼的毒性累积效应及体内几种重要酶的影响, 从体内几种重要酶活性及脂质过氧化产物水平的变化探讨镉、锌对白氏文昌鱼的毒性效应。采用 2D 电泳手段对不同金属暴露时间下发生显著差异变化的蛋白进行筛选和鉴定, 以寻找和文昌鱼金属胁迫相关的蛋白标志物, 并通过 mRNA 表达谱测序技术寻找调控文昌鱼耐受金属胁迫的关键基因及主要信号通路, 为文昌鱼的毒理效应研究中提供理论依据。

研究结果如下:

1、了解文昌鱼的摄食行为是对其进行金属累积研究的基础。首先我们从清滤率测定、颗粒选择、有机碳吸收几方面对厦门文昌鱼的摄食生理进行了研究, 结果显示厦门海域存在的两种文昌鱼均对半径较大的食物颗粒表现出高清滤率, 且两种文昌鱼的摄食高峰出现在不同的时间点。文昌鱼对单胞藻及沉积物混合悬浮液的颗粒选择性的研究显示文昌鱼并没有表现出对藻类的优先选择, 在低颗粒浓度环境中, 文昌鱼较易滤食沉积物, 而随着外界颗粒浓度上升, 文昌鱼对有机质和沉积物表现出了相当的滤食能力。不同藻类对文昌鱼的有机碳同化率影响较大, 硅藻饵料能使文昌鱼获得更多的有机碳。

2、采用放射性同位素示踪法测定文昌鱼对金属 Cd、Zn 的水相吸收速率常数  $k_u$ , 饵料源金属的同化率 AE, 金属的排除率常数  $k_e$  和摄食率 IR, 并运用生物动力学模型, 比较饵料暴露和水体暴露对文昌鱼的金属累积的相对重要性和食物链传递因子 TTF。结果表明文昌鱼对 Cd、Zn 的吸收速率常数分别为  $0.107\text{L g}^{-1} \text{d}^{-1}$  和  $0.061\text{L g}^{-1} \text{d}^{-1}$ 。两种金属的 AE 随着藻类的不同而有所差异, 其中 Cd 的 AE 范围在 6.2-37.7%, Zn 的 AE 范围在 8.4-42.9%。水体暴露后 Cd 和 Zn 的金属排出率  $k_e$  分别为 0.012 和  $0.031 \text{d}^{-1}$ , 而饵料暴露后则分别为 0.033 和  $0.040 \text{d}^{-1}$ 。将测得的参数数值代入模型发现, 对 Cd 的吸收水相暴露成为其主要的方式, 对 Zn 累积而言, 食物相暴露比水相途径更为重要, 且在自然条件下, Cd 和 Zn 两

种金属通过文昌鱼进行食物链放大的可能性很小。

3、采用亚慢性毒性实验研究了镉、锌对白氏文昌鱼的毒性累积效应及体内几种酶活性的影响, 研究表明, 镉和锌对白氏文昌鱼的 96h  $LC_{50}$  分别为 4.60mg/L 和 2.26mg/L, 相比之下锌对白氏文昌鱼的毒性更大, 且文昌鱼对锌的调节能力大于镉。7d 亚慢性毒性实验表明文昌鱼体内的乙酰胆碱酯酶(AChE)活性随着金属暴露时间的延长持续下降; 脂质过氧化程度(MDA 水平)在金属暴露初期即达到极显著水平, 随后稍有下降且镉对文昌鱼体内活性氧的诱导作用大于锌; SOD 活性在暴露中期受到显著抑制, 之后逐渐恢复。文昌鱼体内的 AKP 活性在镉或锌暴露一天后被显著诱导, 之后恢复至对照水平; ACP 活性随镉暴露时间延长, 呈现先升高再下降的趋势, 而锌对 ACP 活性无显著影响。实验结果表明即使是很低浓度的镉、锌都会对文昌鱼的神经系统、抗氧化系统造成一定的影响。

4、在亚致死浓度镉、锌暴露胁迫下, 用双向电泳(2D-PAGE)技术分离文昌鱼组织全蛋白质, 并采用蛋白质组学和数据库比对技术筛选与鉴定差异蛋白质。实验结果表明, 文昌鱼经低浓度镉诱导后, 共产生了 27 个差异蛋白点, 在镉暴露前后其主要差异蛋白质有始终上调的肌动蛋白, 始终下调的有微管蛋白、CAVPT 和 CK, 而随着镉暴露时间不同, 小热激蛋白、肌钙蛋白、肌球蛋白及血纤维肽等蛋白的表达量也随着发生变化。而文昌鱼经低浓度锌诱导后, 共产生了 37 个差异蛋白点, 在锌暴露前后其主要差异蛋白质有始终上调的 CAVPT、ATP 合酶  $\beta$  亚基、中间丝蛋白 B1、热激蛋白 70、组胺受体及两种功能不明的文昌鱼未知蛋白, 始终下调的有  $\beta$ -微管蛋白和  $\alpha$ -烯醇酶。筛选出来的差异蛋白可能与文昌鱼组织抗金属毒性有关, 部分差异蛋白质可作为镉盐或锌盐致毒机理研究的蛋白指示物。

5、通过对文昌鱼正常组织(C)、镉暴露组织(A)、锌暴露组织(B)三个样本进行高通量测序, 分别获得了 CvsA、CvsB 和 AvsB 差异基因有 177 个、139 个和 99 个。其中在两种金属暴露情况下均出现极显著差异表达 ( $|\log_2\text{Ratio}| \geq 7$ ) 的基因有 32 个; 仅出现在镉暴露处理中且差异极显著的基因有 53 个; 而特异表达于锌处理组的显著差异基因有 22 个。其差异基因的 GO 功能显著性富集于结构分子活性、核酸结合、RNA 结合。通过对参与的最主要生化代谢途径和信号



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库